

Determinasi Metode Analisis *Amlodipine Besylate* dengan Metode Spektrofotometri UV

Felix Chandra, Rise Desnita, Sri Luliana

Program Studi Farmasi , Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura,
Pontianak, Indonesia

Contact : yusuffelixchandra@gmail.com

Abstract

Development of analytical methods of amlodipine besylate was carried out by UV spectrophotometry. The solvents used were methanol, buffer chloride pH 1.2, and buffer phosphate pH 6.8. The maximum wavelength in methanol, buffer chloride pH 1.2, and phosphate buffer pH 6.8 are respectively at 237, 239, and 238.5 nm. Determination of the analysis method carried out were linearity, precision, detection limit, quantification limit and accuracy performed according to ICH (International Conference on Harmonization) Guidelines. The UV spectrophotometry method provides analysis results that show good linearity, precision (accuracy) and accuracy (accuracy).

Keyword : amlodipine besylate, methanol, buffer chloride pH 1.2, and buffer phosphate pH 6.8

Abstrak

Pengembangan metode analisis *amlodipine besylate* dilakukan dengan metode spektrofotometri UV. Pelarut yang digunakan yaitu metanol, dapar klorida pH 1,2, dan dapar fosfat pH 6,8. Panjang gelombang maksimum pada medium metanol, dapar klorida pH 1,2, dan dapar fosfat pH 6,8 secara berturut-turut berada pada 237, 239, dan 238,5 nm. Determinasi analisis yang dilakukan adalah linearitas, presisi, batas deteksi, batas kuantifikasi dan akurasi yang dilakukan sesuai ICH (*International Conference on Harmonization*) *Guidelines*. Metode spektrofotometri UV memberikan hasil analisa yang memenuhi linearitas, presisi (kecermatan) dan akurasi (ketepatan).

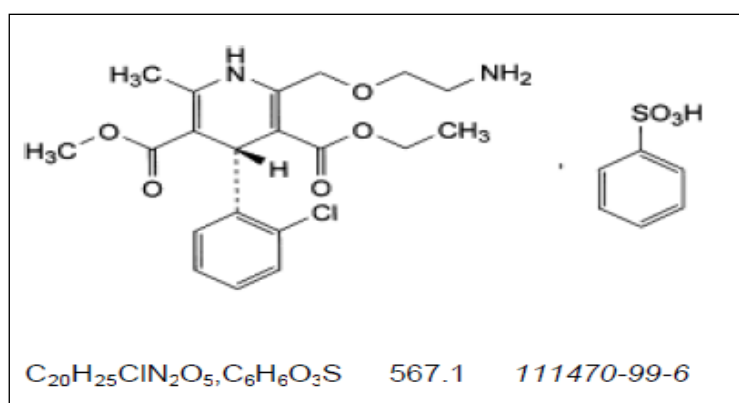
Kata kunci : *amlodipine besylate*, metanol, dapar klorida pH 1,2, dapar fosfat pH 6,8

Pendahuluan

Spektrofotometri serapan adalah pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom suatu zat kimia. Spektrofotometer UV-Vis merupakan spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran di daerah spektrum ultraviolet dan cahaya tampak (visibel) yang terdiri dari suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan cahaya monokromatik dalam jangkauan 200 nm hingga 800 nm dan suatu alat yang sesuai untuk menetapkan serapan ^(1,2).

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis diantaranya pemilihan panjang gelombang maksimal, pembuatan kurva kalibrasi dan pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan. Pemilihan panjang gelombang maksimal diperoleh dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu. Pembuatan kurva kalibrasi dibuat dari seri larutan baku zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Hubungan absorbansi dan konsentrasi jika memenuhi hukum Lambert-Beer akan membentuk kurva kalibrasi berupa garis lurus. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan hendaknya terbaca antara 0,2 sampai 0,8 ⁽²⁾.

Amlodipine besylate, 3-etil 5-metil (4*RS*)-2-[(2-aminoetoksi) metil] 4-(2-klorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat benzensulfonat, berhasiat sebagai antihipertensi dan agen antiangina dalam bentuk garam besilat. *Amlodipine besylate* memiliki berat molekul 567.05 g/mol. *Amlodipine besylate* mengalami penurunan kadar bila diberikan pemanasan yang berlebihan dan sensitif terhadap cahaya. *Amlodipine besylate* memiliki kelarutan sebesar 0,38 mg/mL \pm 0,017 dalam pH 1,2 dan berkurang menjadi 0,11 mg/mL \pm 0,0002 pada pH 6,8. ^(3,4,5)



Determinasi metode analisis dilakukan berdasarkan validasi metode analisis. Validasi metode analisis adalah suatu proses yang menunjukkan bahwa karakteristik metode analisis telah memenuhi persyaratan sesuai penggunaan yang dikehendaki untuk menjamin reproduktibilitas hasil pengukuran.⁽⁶⁾ Metode analisis divalidasi dengan parameter linieritas, sensitivitas, presisi, akurasi dan selektivitas berdasarkan *International Conference on Harmonization (ICH) Guidelines*.^(7,8) Penentuan parameter validasi metode analisis *amlodipine besylate* dapat dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis ⁽⁹⁾.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat

Timbangan analitik (Ohaus), kuvet, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 2450), mikropipet (CAPP), *beaker glass* (Iwaki Pyrex), labu ukur (Iwaki Pyrex), batang pengaduk, kaca arloji, sendok penyusut dan pipet tetes.

Bahan

Amlodipine besylate (PT Dexa Medica, Indonesia), metanol (Merck, Jerman), asam klorida, NaCl, natrium dihidrogen fosfat, dinatrium hidrogen fosfat.

Metode

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum *Amlodipine Besylate*

Pengukuran panjang gelombang maksimum *amlodipine besylate* dilakukan pada medium metanol, dapar klorida pH 1,2, dan dapar fosfat pH 6,8 dengan konsentrasi sampel 11 ppm pada metanol dan 16 ppm pada dapar klorida pH 1,2, dan fosfat pH 6,8. Diukur panjang gelombang maksimal sampel pada rentang area UV 200-400.

Pembuatan Larutan Stok *Amlodipine Besylate*

Larutan stok *amlodipine besylate* dibuat pada medium metanol, dapar klorida pH 1,2, dan dapar fosfat pH 6,8. Pada medium metanol larutan stok dibuat dengan melarutkan $50.233 \pm 0.094 \text{ mg}$ *amlodipine besylate* dalam 100 mL metanol (100 ppm). Larutan stok pada medium dapar klorida dibuat dengan melarutkan $50.133 \pm 0.047 \text{ mg}$ *amlodipine besylate* dalam 100 mL medium (500 ppm). Pada medium dapar fosfat pH 6,8 larutan stok dibuat dengan melarutkan $5.267 \pm 0.047 \text{ mg}$ *amlodipine besylate* dalam 100 mL medium.

Determinasi Metode Analisis

Determinasi metode analisis divalidasi dengan parameter linieritas, presisi, LOD dan LOQ serta akurasi yang dilakukan dalam medium metanol, dapar klorida pH 1,2, dan dapar fosfat pH 6,8.

Linearitas

Uji linearitas dilakukan pada tiga medium yaitu metanol, dapar klorida pH 1,2 , dan dapar fosfat pH 6,8. Seri kadar yang digunakan pada medium metanol yaitu 5, 8, 11, 14, 17, dan 20 ppm, sedangkan seri kadar yang digunakan pada medium dapar klorida pH 1,2 dan dapar fosfat pH 6,8 yaitu 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, dan 24 ppm . Seri konsentrasi dibuat dengan mengencerkan masing-masing larutan stok. Diukur absorbansi dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimal. Didapatkan kurva kalibrasi dan direplikasi sebanyak tiga kali.

Parameter adanya hubungan koefisien korelasi (r) pada analisis regresi linear ditunjukkan oleh persamaan ⁽⁶⁾:

$$y = bx + a$$

Keterangan:

a : Intersep yang menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan

b : Nilai *slope*

x : Serapan / absorbansi

y : absorbansi

Presisi (Kecermatan)

Uji presisi dilakukan terhadap sampel *amlodipine besylate* dalam tiga medium yaitu metanol, dapar klorida pH 1,2 , dan dapar fosfat pH 6,8. Uji presisi dilakukan menggunakan 3 konsentrasi diantaranya 5, 11, 17 ppm pada medium metanol dan 10, 16, 20 ppm pada medium dapar klorida pH 1,2 dan dapar fosfat pH 6,8. Masing-masing konsentrasi direplikasi 3 kali. Kriteria presisi diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi 2% atau kurang. Keseksamaan dapat dihitung dengan menggunakan persamaan Standar Deviasi (SD) dan relatif standar deviasi (RSD) sebagai berikut ⁽⁶⁾:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}}$$

Keterangan:

SD : Standar deviasi

x : Pengukuran tunggal

\bar{x} : Rata-rata pengukuran

n : Jumlah pengukuran

RSD : Relatif standar deviasi

Simpangan baku relatif atau koefisien variasi (CV) dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan sebagai berikut ⁽⁶⁾:

$$CV = RSD \times 100$$

LOD dan LOQ

Batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) dapat dihitung secara statistik melalui persamaan garis linear dari kurva baku. Nilai LOD dan LOQ dapat diperoleh dengan perhitungan menggunakan persamaan melalui pedoman ICH ⁽⁵⁴⁾:

$$\text{LOD} = \frac{3 \times \sigma}{S}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \sigma}{S}$$

Keterangan:

LOD : Batas deteksi

LOQ : Batas kuantifikasi

σ : Standar deviasi respon

S : *slope* dari kurva kalibrasi

Akurasi (Ketepatan)

Uji akurasi dilakukan dalam tiga medium yaitu metanol, dapar klorida pH 1,2 , dan dapar fosfat pH 6,8. Uji akurasi dilakukan dengan mengukur nilai perolehan kembali pada 3 sampel dengan 3 kali replikasi. Pada medium metanol uji akurasi dilakukan dengan konsentrasi 5, 11, dan 17 ppm. Sedangkan pada medium dapar klorida dapar klorida pH 1,2 , dan dapar fosfat pH 6,8 konsentrasi yang digunakan ialah 8, 16, dan 24 ppm. Nilai akurasi dapat dihitung melalui persen perolehan kembali. Perolehan kembali (%) dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan sebagai berikut ⁽⁶⁾:

$$\text{PK} = \frac{K_t}{K_s} \times 100\%$$

Keterangan:

PK : Perolehan kembali

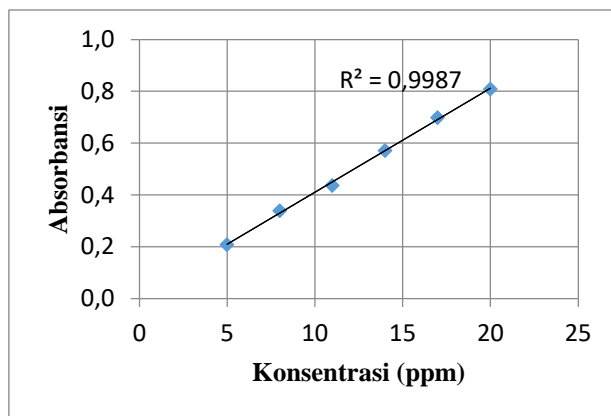
K_t : Konsentrasi sampel yang terukur dari pengukuran

K_s : Konsentrasi sampel sebenarnya

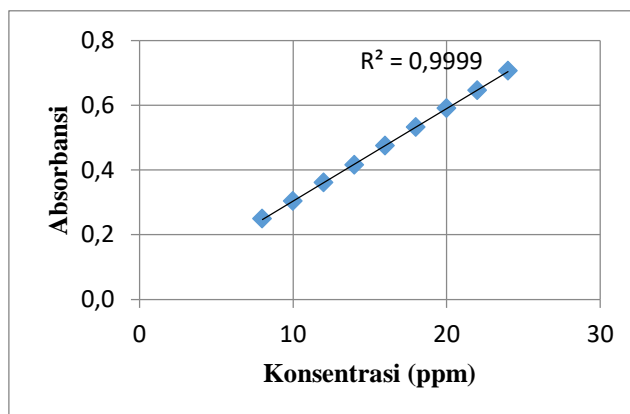
HASIL

Linearitas

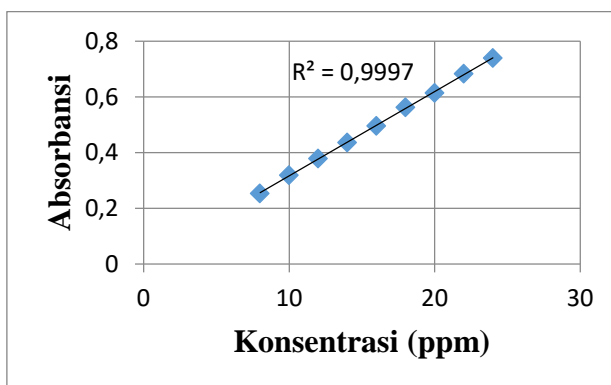
Hasil penentuan panjang gelombang sesuai dengan persyaratan farmakope V, yang mana penyimpangan panjang gelombang maksimal yang diizinkan ialah ± 1 .⁽¹⁰⁾ Panjang gelombang maksimal *amlodipine besylate* pada penelitian sebelumnya di medium metanol, dapar klorida pH 1,2, dan dapar fosfat pH 6,8 berturut-turut ialah 238, 239, dan 238.^(11,12,13) Hasil uji linearitas menunjukkan bahwa *amlodipine besylate* memiliki linearitas yang baik dalam ketiga medium ditunjukkan dengan hasil koefisien korelasi sebesar 0,9987 dalam metanol, 0,9997 dalam dapar klorida pH 1,2 , dan 0,9993 dalam dapar fosfat pH 6,8. Hasil uji linearitas dapat dilihat pada Gambar 1, 2, dan 3.



Gambar 1. Grafik Data Uji Linearitas dalam Metanol



Gambar 2. Grafik Data Uji Linearitas dalam Dapar Klorida pH 1,2



Gambar 3. Grafik Data Uji Linearitas dalam Dapar Fosfat pH 6,8

Presisi

Data hasil uji presisi dapat dilihat pada Tabel 1, 2, dan 3

Tabel 1. Data Uji Presisi dalam Metanol

Konsentrasi (ppm)	Replikasi			SD	% RSD
	1	2	3		
5	0,238	0,237	0,235	0,0011	0,48
11	0,457	0,459	0,456	0,0014	0,31
17	0,658	0,655	0,657	0,0012	0,19

Tabel 2. Data Uji Presisi dalam Dapar Klorida pH 1,2

Konsentrasi (ppm)	Replikasi			SD	% RSD
	1	2	3		
10	0,281	0,282	0,280	0,0008	0,29
16	0,469	0,467	0,471	0,0016	0,35
20	0,556	0,556	0,554	0,0009	0,17

Tabel 3. Data Uji Presisi dalam Dapar Fosfat pH 6,8

Konsentrasi (ppm)	Replikasi			SD	% RSD
	1	2	3		
10	0,278	0,277	0,279	0,0008	0,29
16	0,439	0,442	0,440	0,0012	0,28
20	0,549	0,548	0,546	0,0012	0,23

LOD dan LOQ

Hasil perhitungan penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Tabel LOD (*Limit Of Detection*) dan LOQ (*Limit Of Quantification*)

Pelarut	LOD (ppm)	LOQ (ppm)
Metanol	0,7258	2,4195
Dapar Klorida pH 1,2	0,3858	1,286
Dapar Fosfat pH 6,8	0,6355	2,1185

Akurasi

Hasil uji akurasi menunjukkan *amlodipine besylate* memiliki akurasi yang baik dalam ketiga medium. Data hasil uji akurasi dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Data Uji Akurasi

Medium	Konsentrasi (ppm)	Perolehan Kembali (%)
Metanol	5	99.18
	11	99.67
	17	100.15
Dapar pH 1,2	8	99.88
	16	100.08
	24	101.06
Dapar pH 6,8	8	100.47
	16	100.57
	24	101.04

PEMBAHASAN

Hasil determinasi metode analisis menunjukkan bahwa metode spektrofotometri Uv memberikan hasil linearitas, persisi, dan akurasi yang baik untuk analisis *amlodipine besylate* dalam medium metanol, dapar klorida pH 1,2, dan dapar fosfat pH 6,8. Akurasi yang dinilai dari persen perolehan kembali berada dalam rentang 98-102% dan presisi yang dinilai dari persen nilai koefisien variasi yang bernilai kurang dari 2% menunjukkan bahwa metode spektrofotometri Uv untuk senyawa *amlodipine besylate* merupakan metode yang akurat dan *reproducible*. Hasil pengujian presisi menunjukkan *amlodipine besylate* memiliki presisi yang baik dalam ketiga medium dimana nilai koefisien korelasi (r) ± 1 .

DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia. Edisi keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.
2. Sirait RA. Penetapan Metode Spektrofotometri Ultraviolet pada Penetapan Kadar Nifedipin dalam Sediaan Tablet [Skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara; 2009.
3. Tiwari S. Study Of Amlodipine Besylate on Acid, Base, Temperature, and U.V. Light. International Journal For Research Applied Science and Engineering Techn.2016;4(2):64-67
4. PubChem. Amlodipine Besylate [internet]. United State: Amlodipine Besylate. 2018 [diakses 08 Oktober 2018]. Tersedia di: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/amlodipine_besylate#section=Top
5. Pant K, Mishra K, Subedi RK. In Vitro Studies Of Amlodipine Besylate Tablet and Comparison with Foreign Brand Leader in Nepal. International Journal of Pharmaceutical Science and Research. 2013; 4(10): 3958-3964
6. Kalyankar TM, Wadher SJ, Kulkarni PD, Pachakshari PP. Simultaneous Estimation and Development of UV Spectroscopic Method for Determination of Cinnarizine and Domperidone in Bulk and Pharmaceutical Formulation. International Journal of PharmTech Research. Jan-Mar 2014; 6(1): 328.
7. ICH, Q2A, Harmonized Tripartite Guideline, Text on validation of analytical procedures, IFPMA, in proceeding of International Conference on Harmonization, Geneva, March ,1994.
8. ICH, Q2B, Harmonized Tripartite Guideline, Text on validation of analytical procedures, IFPMA, in proceeding of International Conference on Harmonization, Geneva, March 1996.

9. C Raj M, G Chaudhari B. Development and Validation of Spectrophotometric Method for Simultaneous Estimation of Amlodipine Besylate and Indapamide in Tablet Dosage Form. *International Research Journal of Pharmacy*. 2012; 3(5): 377-381
10. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Indonesia*. Edisi Kelima. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2014
11. Inamdar NA et al. Analytical Method Development For Estimation Of S(-) Amlodipine Besylate & Olmesartan Medoxomil By UV Spectroscopy. *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research*. 2015; 6(5): 400-405
12. Girdhari J, Prabhakara P, Pankaj K, Annu K, Marina K. Simultaneous Estimation Of Atenolol and Amlodipine Besylate in Tablet Formulations By Vierordt's Method Using UV Spectrophotometry. *International Research Journal Of Pharmacy*. 2012; 3(2): 248-250.
13. Shrihari BS et al. Formulation and Evaluation Of Fast Dissolving Tablet S-Amlodipine Besylate. *Indo America journal of Pharmaceutical Research*. 2016; 6(7): 6037-6072